

DIN EN 15634-4:2023-05 (D)

Lebensmittel - Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren - Teil 4: Erdnuss (*Arachis hypogaea*) - Qualitativer Nachweis einer spezifischen DNA-Sequenz in Schokolade mittels Real-time PCR; Deutsche Fassung EN 15634-4:2023

| Inhalt | Seite |
|--|-------|
| Europäisches Vorwort..... | 3 |
| Einleitung | 4 |
| 1 Anwendungsbereich..... | 5 |
| 2 Normative Verweisungen | 5 |
| 3 Begriffe | 5 |
| 4 Kurzbeschreibung..... | 5 |
| 5 Reagenzien | 5 |
| 5.1 Allgemeines..... | 5 |
| 5.2 Extraktionsreagenzien | 5 |
| 5.3 DNA-Aufreinigung mittels Festphasenextraktion | 6 |
| 5.4 Real-time-PCR-Reagenzien..... | 7 |
| 6 Geräte und Ausstattung..... | 7 |
| 6.1 Allgemeines..... | 7 |
| 6.2 DNA-Extraktion..... | 7 |
| 6.3 PCR..... | 8 |
| 7 Durchführung | 8 |
| 7.1 Allgemeines..... | 8 |
| 7.2 Probenvorbereitung..... | 8 |
| 7.3 Herstellung der Extrakte | 8 |
| 7.3.1 DNA-Extraktion mit CTAB und DNA-Aufreinigung | 8 |
| 7.3.2 Quantifizierung der DNA-Konzentration und Reinheits-/Qualitätskontrolle..... | 9 |
| 7.4 Einstellungen für die Real-time-PCR..... | 9 |
| 7.4.1 Reaktionsansatz für die Real-time-PCR | 9 |
| 7.4.2 Positivkontrolle der DNA-Targets | 11 |
| 7.4.3 Negativkontrolle der DNA-Targets | 11 |
| 7.4.4 PCR-Inhibitionskontrolle..... | 11 |
| 7.4.5 Amplifikations-Reagenzienkontrolle | 11 |
| 7.4.6 Negative Extraktionskontrolle..... | 11 |
| 7.4.7 Positive Extraktionskontrolle | 11 |
| 7.4.8 Temperatur-Zeit-Programm (Real-time-PCR)..... | 11 |
| 7.4.9 Kriterien für Annahme/Zurückweisung..... | 12 |
| 7.4.10 Identifizierung..... | 12 |
| 8 Validierung..... | 13 |
| 8.1 Allgemeines..... | 13 |
| 8.2 Spezifität..... | 13 |
| 8.3 Validierungsstudie im Ringversuch | 13 |
| 8.3.1 Aufbau des Ringversuchs..... | 13 |
| 8.3.2 Ergebnisse der Ringversuch-Validierung..... | 14 |
| 9 Untersuchungsbericht | 15 |
| Literaturhinweise | 16 |